

L'estetrolo (E4): caratteristiche e peculiarità per l'uso terapeutico in età fertile ed in menopausa

Christian Battipaglia, Fedora Ambrosetti, Tabatha Petrillo, Alessandra Sponzilli, Melania Arnesano, Nicola Piacquadio, Maria Laura Rusce, Greta Prampolini, Elisa Semprini, Francesco Ricciardiello, Veronica Tomatis, Alessandro D Genazzani

CENTRO DI GINECOLOGIA ENDOCRINOLOGICA, CLINICA OSTETRICA E GINECOLOGICA,
UNIVERSITÀ DI MODENA E REGGIO EMILIA

ABSTRACT

{ITA} Gli estrogeni sono ormoni fondamentali per il mantenimento della salute femminile a tutte le età, inoltre i loro derivati sintetici sono largamente utilizzati sia a scopo contraccettivo che come terapia ormonale sostitutiva. Nell'essere umano troviamo quattro tipi di estrogeni: Estrone (E1), estradiolo (E2), Estriolo (E3) ed estetrolo (E4). L'E4 è uno steroide sintetizzato dal fegato fetale durante la gravidanza ed è stato recentemente studiato al fine di poterlo utilizzare per le terapie ormonali. Sembra infatti essere un valido alleato, grazie alla sua capacità agonista specifica sui recettori estrogenici nucleari alfa ($ER\alpha$), per lo sviluppo di terapie contraccettive ed eventuali terapie ormonali sostitutive con minori effetti collaterali rispetto a trattamenti con etinil estradiolo. Questa review ha lo scopo di analizzare meglio le caratteristiche di questo estrogeno valutando i suoi possibili utilizzi clinici.

{ENG} Estrogens play a key role in women health at all ages and their derivatives are widely used to develop contraceptive pills and all forms of hormonal replacement treatments. There are four types of estrogens naturally expressed in humans: estrone (E1), estradiol (E2), estriol (E3) and estetrol (E4).

Estetrol (E4) is a steroid produced by the fetal liver during pregnancy. Lately it has been the main focus of research so that to use it for contraception as well as replacement treatment. E4 binds selectively nuclear estrogen receptors alpha ($ER\alpha$) and represents a valid choice for contraception and hormone replacement therapies during menopause as it appears to have less side effects than ethinyl estradiol. This review analyses the characteristics of E4 and evaluates its clinical applications.

INTRODUZIONE

Il ruolo degli estrogeni nella terapia ormonale contraccettiva è stato da sempre considerato di fondamentale importanza, non tanto per il loro effetto inibitorio sull'ovulazione, primariamente attribuito alla componente progestinica, quanto per bilanciarne gli effetti e regolarizzare le perdite ematiche mestruali. Dal 1961, la ricerca ha portato all'immissione in commercio di preparati progestinici con sempre minore attività androgenica e con caratteristiche anti-mineralcorticoidi, riducendo gran parte degli effetti collaterali (alterazioni metaboliche, segni periferici di iperandrogenismo) e migliorando così la tollerabilità dei preparati per la contraccezione ormonale. [1]

La componente estrogenica delle preparazioni contraccettive ha avuto uno sviluppo più lento e solo nell'ultimo decennio sono state introdotte delle nuove formulazioni estrogeniche: estradiolo micronizzato (E2), estradiolo valerato (EV), ed estetrolo recentissimamente.

Il rischio tromboembolico indotto dall'etinil-estradiolo (EE) è sempre stato attribuito all'elevato dosaggio di questa molecola presente nelle prime preparazioni estro-progestiniche in commercio. Gli estrogeni, infatti, e in particolare l'EE che è il più potente degli estrogeni di sintesi, influenzano la sintesi epatica delle proteine e alterano l'emostasi in senso procoagulatorio (aumento della sintesi di fattori della coagulazione della via intrin-

seca ed estrinseca), riducendo anche la componente di fattori anticoagulanti (proteina S, antitrombina) e incrementando la fibrinolisi (aumento di plasminogeno e attivatore tissutale del plasminogeno con calo del PAI-1). Per questo nel tempo sono state ridotte le dosi di EE a 30, 20 e 15 mcg, unitamente a progestinici che conservavano una modesta attività androgenica e quindi antitrombotica, con soddisfacente miglioramento del rischio di tromboembolia venosa (TEV). [2]

Con l'avvento di progestinici anti-androgenici si è tuttavia nuovamente innalzato il rischio per le pazienti di sviluppare TEV. L'immissione in commercio nel 2010 delle formulazioni contenenti E2/nomegestrolo acetato e EV/dienogest ha indotto una maggiore attenzione sul rischio protrombotico e sul profilo di sanguinamento dei contraccettivi orali. [3]

In questo contesto si inserisce l'introduzione dell'estetrolo come componente delle preparazioni contraccettive, con promettenti vantaggi per una scelta terapeutica sempre più personalizzata.

ESTETROLO: STORIA E RUOLO NELLA FISIOLOGIA DELLA GRAVIDANZA

L'estetrolo (E4) è stato isolato per la prima volta nel 1965 dall'urina delle donne in gravidanza: si trattava infatti di un estrogeno umano naturalmente sintetizzato dal feto durante la gravidanza e già riconoscibile a partire dalla nona settimana di gestazione.

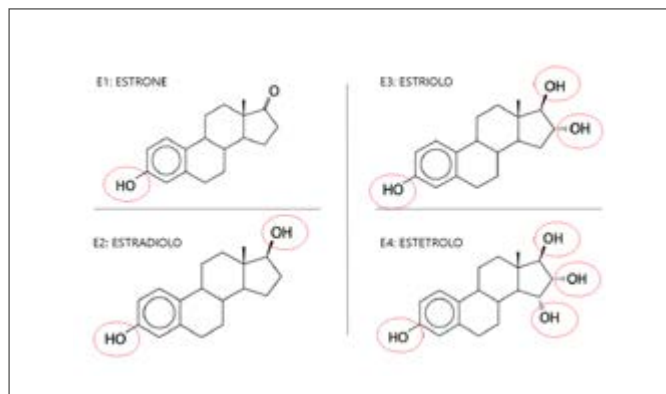


Fig. 1 - Strutturazione chimica dei 4 estrogeni presenti nella biologia umana: l'estetetrolo (E4) è tipizzato dalla presenza di 4 gruppi OH.

Il fegato fetale possiede infatti due enzimi (15alfa-idrossilasi e 16alfa-idrossilasi) espressi solamente durante la vita fetale e che hanno la funzione di idrossilare estradiolo (E2) ed estriolo (E3) per formare una molecola con 4 gruppi -OH (Fig. 1). Attraverso la placenta, l'E4 raggiunge il circolo materno e viene escreto nelle urine dopo aver subito unicamente un processo di glucuronazione epatica e senza dare origine ad ulteriori metaboliti. I livelli di E4 aumentano progressivamente nel corso della gravidanza fino a raggiungere un picco nell'ultimo trimestre, per esaurirsi poi in breve tempo dopo il parto. L'E4 fu inizialmente studiato per il ruolo come potenziale marker del benessere fetale durante la gravidanza, senza tuttavia ricavarne nessuna evidenza. [4]

Gli studi eseguiti tra gli anni '70 e '80 mostrarono come l'E4 avesse una potenza estrogenica minore rispetto all'EE: esso, infatti, non si legava efficacemente alla sex hormone binding globulin (SHBG) e aveva una bassa affinità per i recettori estrogenici, e fu pertanto abbandonato.

Solo nel 2001 la crescente domanda di nuovi composti per una migliore offerta contraccettiva portò la ricerca nuovamente sulle tracce di questo estrogeno, grazie a un nuovo metodo di estrazione da prodotti vegetali e dunque ora riproducibile su larga scala. [5] Da allora sono stati indagati gli effetti dell'E4 in vitro e poi in vivo, fino agli studi di fase III che hanno portato all'immissione in commercio della prima pillola contraccettiva a base di E4/drospirenone (DRSP) [6-7] e che attualmente valutano l'efficacia della prima terapia ormonale sostitutiva (TOS) sempre contenente E4.

Solo recentemente, sono stati chiariti i meccanismi che stanno alla base della fondamentale e crescente produzione fetale di E4. Era già stato dimostrato che gli estrogeni hanno un ruolo prominente nella neurogenesi, nello sviluppo del sistema nervoso centrale (SNC) e nell'attenuare il danno neuronale in caso di encefalite ipossico-ischemica (EII) neonatale grazie al loro elevato potenziale antiossidante. In particolare, l'E4 possiede caratteristiche che lo rendono in grado di passare facilmente attraverso la barriera ematoencefalica ed è emerso che ha un effetto neuroprotettivo, terapeutico e proliferativo sull'ippocampo e sulla corteccia, quando somministrato a modelli animali con EII. Questi effetti sono verosimilmente mediati attraverso il recettore estrogenico ER-alfa e sembra che l'E4 regoli anche una forma di neoangiogenesi cerebrale attraverso l'aumento di espressione del fattore di crescita vascolare (VEGF).

Se l'E4 possiede quindi un ruolo fisiologico nella protezione

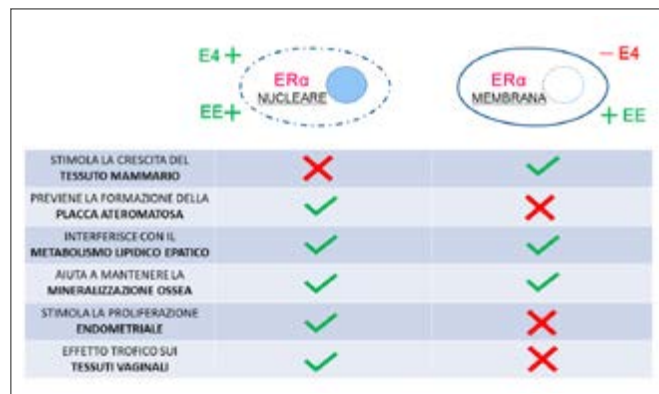


Fig. 2 - Differenti caratteristiche di affinità recettoriale dell'E4 rispetto all'E2 e all'EE. L'E4 ha alta affinità per i recettori estrogenici α (ER α) nucleari e azioni distinte rispetto all'E2 e EE che lo rendono di maggiore sicurezza.

neuronale allo stimolo ipossico, massima durante il parto, nuove opportunità terapeutiche si potrebbero aprire per la cura degli esiti dell'ipossia fetale e di patologia neurologiche come il Morbo di Parkinson e la Malattia di Alzheimer. [8]

AZIONE DELL'ESTETROLO NEI DIVERSI TESSUTI.

Le caratteristiche farmacologiche che contraddistinguono l'E4 sono un'alta biodisponibilità orale (90%) con un'emivita media di 28-32 ore, molto maggiore se confrontata con quella di 10-20 minuti dell'E3, di 1-2 ore per l'E2 naturale e di 10-12 ore per l'E2 micronizzato. Questa proprietà lo ha reso un ottimo candidato non solo per una formulazione in mono-somministrazione giornaliera, ma anche per la creazione di un contraccettivo con un buon margine di copertura anche in caso di dimenticanza. [9]

Riguardo l'efficacia contraccettiva, l'E4 inibisce l'ovulazione sia in formulazione con DRSP che con levonorgestrel (LNG), progestinico con cui era stato inizialmente abbinato, con effetto più marcato se somministrato ad alte dosi (20 mcg invece dei 15mcg della pillola contraccettiva) e l'ovulazione dopo la sospensione del trattamento è rapidamente ripristinata in 18-21 giorni. [10] L'E4 possiede un distinto profilo di specificità recettoriale che caratterizza la sua azione nei tessuti: attiva i recettori estrogenici α (ER α) nucleari, mentre ha effetto antagonista sui ER α di membrana e bassa specificità per i ER β . Grazie a questa vantaggiosa peculiarità, l'E4 può essere definito come il primo estrogeno naturale con azione selettiva sui tessuti (Natural Estrogen with Selective action in Tissues - NEST) [11] (Fig. 2).

I tessuti vaginali vengono stimolati a mantenere o ripristinare il loro trofismo e stratificazione epiteliale, mentre sul miometrio l'E4 induce la differenziazione cellulare e aumenta lo spessore dell'endometrio, rendendo comunque necessaria la somministrazione di un progestinico per la prevenzione dello sviluppo dell'iperplasia endometriale. [12]

Come estrogeno-agonista, l'E4 favorisce la mineralizzazione dell'osso sincronizzandone i processi di rimodellamento con effetti protettivi sull'osteoporosi; l'E4 induce l'aumento dei livelli di allopregnanolone e di β -endorfina sia a livello del SNC (ippocampo, corteccia frontale e ipofisi) che dei tessuti periferici, mentre in presenza di E2V esercita un'azione estrogeno-antagonista. [13]

Le terapie ormonali a base di E4 hanno un effetto limitato sulla

Profilo metabolico NEUTRO	E4/DRSP	EE/LNG	EE/DRSP
COLESTEROLO TOTALE	=	↗	=
HDL	=	↘	=
LDL	=	↗	=
TRIGLICERIDI	=	↗	↗
INSULINA	=	=	=

Fig. 3 - Effetti metabolici della preparazione contraccettiva di E4/DRSP rispetto alle classiche preparazioni con EE/LNG e EE/DRSP. L'E4 si è dimostrato assolutamente neutrale su tutti i parametri metabolici.

funzionalità epatica: i trigliceridi aumentano lievemente mentre i valori di HDL si mantengono nella norma, a differenza di quello che accade nei composti a base di EE. Anche le curve da carico orale di glucosio 75g (OGTT) in pazienti in terapia con E4/DRSP non hanno mostrato alterazioni significative del profilo glicemico né insulinico [14]. A livello epatico, inoltre, l'E4 non interagisce con gli enzimi della famiglia del citocromo P-450 coinvolti nel metabolismo di molti farmaci, con vantaggio non indifferente per molte pazienti (Fig. 3).

Infine, la produzione epatica di SHBG è solo minimamente aumentata dall'E4. Questa proteina ha la funzione di carrier per testosterone ed altri steroidi e i suoi livelli vengono spesso utilizzati come indicatore di estrogenicità di un composto (effetto estrogenico dell'estrogeno utilizzato sommato all'effetto anti-estrogenico del progestinico) per valutare l'effetto degli ormoni esogeni sul fegato. In questo caso, la combinazione E4/DRSP ha un effetto modificamente estrogenico sul fegato e sulla produzione di proteine epatiche, tra cui quelle coinvolte nell'emostasi. [11,14] In particolare, la combinazione E4/DRSP comporterebbe cambiamenti dell'emostasi non differenti o minori rispetto a quelli della più nota EE/LNG, con lieve aumento di angiotensinogeno, senza alterare i valori di proteine S e C anticoagulanti e di antitrombina. [15]

HOT TOPICS: RISCHIO TROMBOEMBOLICO ED EFFETTI SULLA MAMMELLA.

Dagli studi condotti in questi anni emerge quindi che la formulazione E4/DRSP ha un grado di effetti estrogenici sul circolo vascolare e sul fegato inferiori rispetto alla preparazione con EE/DRSP e questo porterebbe a considerare un minor rischio tromboembolico per le pazienti in terapia con E4. [16] Sono comunque necessari studi post-marketing per verificare questo dato nella popolazione generale e nella variabilità di fattori di rischio come età, fumo, BMI e familiarità, che sono più complessi da analizzare in gruppi ristretti di pazienti.

Un effetto innovativo dell'E4 è quello sul tessuto mammario. Da studi condotti in vitro e in vivo è emerso che l'E4 ha un'azione debolmente estrogenica sulla mammella e in presenza di E2 ne antagonizza gli effetti; è inoltre in grado di esercitare un'azione pro-apoptica sulle ghiandole mammarie con un moderato stimolo sulla proliferazione. Sui topi con tumore mammario indotto dall'esposizione a DMBA (7,12-dimetilbenzantracene, noto

cancerogeno), l'E4 è in grado di prevenire la crescita del tumore e riesce a ridurre e contenere le dimensioni dei tumori quando già presenti, con efficacia dose dipendente. [5]

In un trial sperimentale condotto su donne affette da tumore mammario in stadio avanzato, sono state somministrate alte dosi di E4 (20, 40 o 60 mcg), ossia a dosaggi con potenza equivalente alle dosi di EE altrimenti utilizzate. È stato dimostrato che l'E4 ha un'azione antitumorale con stabilizzazione del tumore in alcuni casi, fino alla regressione in altre pazienti. Contemporaneamente, l'estrogeno sistemico ha agito come terapia sostitutiva con miglioramento della compliance e del benessere delle pazienti che soffrivano degli effetti delle terapie anti-estrogeniche con cui erano state trattate a lungo. [17]

Infine, in uno studio preclinico condotto utilizzando il dosaggio contenuto nella terapia contraccettiva su tre diversi modelli animali, l'E4 è risultato neutro rispetto al rischio di sviluppare un tumore mammario o di disseminazione di metastasi. [18]

Sono tuttavia necessari studi su una popolazione più larga di pazienti per poter formulare un giudizio certo di sicurezza sul profilo mammario della terapia con E4/DRSP.

L'ESTETROLO NELLA TERAPIA ORMONALE: PROFILO DI SANGUINAMENTO, ACCETTAZIONE, SICUREZZA.

Il contraccettivo ormonale ideale è sicuro, ben tollerato, in grado di bloccare l'ovulazione nel 100% delle pazienti che ne fanno uso e presenta minima incidenza di episodi di sanguinamenti durante l'assunzione (breakthrough bleeding).

I contraccettivi ormonali combinati tradizionalmente sono composti da una componente estrogenica ed una progestinica. Gli estrogeni agiscono stabilizzando l'endometrio, regolando il sanguinamento mestruale e riducendo lo sviluppo follicolare ovarico.

L'estetrolo (E4), grazie al suo diverso effetto sui recettori estrogenici, rappresenta una valida alternativa per la contraccezione. Diversi studi sono stati condotti per determinare la dose minima di E4 necessario affinché si potesse avere un buon controllo del sanguinamento e dell'ovulazione in associazione a 150 mcg di Levonorgestrel (LNG) o 3 mg di Drospirenone (DRSP) [19]. Si è visto che l'attività ovarica residua in seguito all'utilizzo di contraccettivi a base di E4 e progestinici diminuisce all'aumentare della dose di E4 con un raggiungimento di inibizione ottimale con dose di E4 superiori ai 10 mg [19].

Il pattern di sanguinamento di composti contraccettivi a base di estetrolo è stato valutato in uno studio randomizzato condotto rispettivamente con formulazioni di 15mg o 20 mg di E4 associati con 3mg di DRSP o 150 mcg di LNG [20]. Lo scopo di questo studio era trovare la combinazione in grado di avere mancanza del sanguinamento da sospensione e spotting intermestruale in meno del 20% dei casi considerando una corretta assunzione. Dai dati raccolti si è evidenziato che questo era possibile utilizzando o combinazioni di 15mg di E4 con 3 mg di DRSP oppure 20 mg di E4 con 150 mcg di LNG [20].

È importante ricordare che i contraccettivi orali combinati sono studiati per donne in salute e per questo devono essere in grado di garantire un buon profilo di sicurezza per le utilizzatrici. La presenza di pochi effetti avversi è inoltre direttamente correlata alla compliance delle utenti nell'utilizzo della terapia contraccettiva. I contraccettivi combinati a base di E4 hanno effetti avversi

del tutto assimilabili a tutti gli altri COC già in commercio [19], con un'incidenza minima nelle combinazioni con 15 mg di E4 e 3 mg di DRSP [20,21]. La sicurezza, l'efficacia contraccettiva e la capacità di controllare il pattern di sanguinamento di 15mg di E4/ 3 mg di DRSP sono stati confermati in un largo studio di fase 3 coinvolgente un'ampia popolazione di donne in salute sotto i 50 anni con cicli regolari e BMI inferiore a 35 kg/m² [22–24]. La scelta dell'abbinamento con il drospirenone è stata rilevante al fine di avere un minimo se non nullo incremento del peso corporeo essendo questo uno degli aspetti che maggiormente influenza la scelta del metodo contraccettivo [25]. Il DRSP con il suo effetto anti-mineralcorticoide va infatti a ridurre l'azione estrogenica favorente la ritenzione idrica.

Gli estrogeni, inoltre, con il loro impatto su fegato ed endotelio vascolare sono tra i maggiori responsabili delle complicanze tromboemboliche e cardiovascolari che possono verificarsi durante l'assunzione di contraccettivi orali combinati. Di fatto l'E4 rappresenta un'opzione molto interessante in quanto il suo utilizzo in diversi dosaggi associati a DRSP ha un impatto minimo sia sulla componente epatica che su quella emostatica rispetto a preparazioni a base di etinilestradiolo e DRSP [15,26].

La formulazione di contraccettivo combinato con 15 mg di E4 e 3 mg di DRSP inoltre non ha effetti negativi su metabolismo glucidico e colesterolo mostrando per di più effetti meno pronunciati sul cambiamento dei livelli di gonadotropine, cortisolo e trigliceridi rispetto a CO a base di etinilestradiolo [14].

PROSPETTIVE PER LA TERAPIA ORMONALE SOSTITUTIVA IN MENOPAUSA.

La menopausa è classicamente associata con un gruppo eterogeneo di sintomi di tipo vasomotorio, genitourinario, metabolico e di altra natura che hanno un impatto negativo sul benessere fisico, sessuale e psico-sociale della donna, tutti dipendenti dal quadro ipoestrogenico [27]. Diversi sono gli approcci farmacologici ed integrativi utilizzati al momento per alleviare questi sintomi, ma nonostante l'utilizzo di terapie ormonali sostitutive a dosaggi sempre più contenuti e con tecniche di somministrazione meno invasive (ad esempio transdermica) rimane alta la preoccupazione di eventuali effetti avversi come l'aumento del rischio tromboembolico e la probabilità di sviluppare tumore alla mammella. L'estetrolo (E4) è di fatto un estrogeno naturale sintetizzato dal fegato fetale che ha un'azione selettiva sia agonista che antagonista a livello tissutale. Questo lo differenzia dai modulatori selettivi dei recettori degli estrogeni (SERMs) [28–30]. A differenza degli altri prodotti estrogenici, è in grado di attivare i recettori alfa nucleari (ER α) inducendo una trascrizione genomica e antagonizzando allo stesso tempo l'effetto dei recettori estrogenici di membrana. L'attivazione dell'ER α nucleare è il responsabile della maggior parte degli effetti vasoprotettivi dovuti agli estrogeni [28]. L'E4 agisce come un agonista del recettore degli estrogeni su ossa, tessuto vaginale, endometrio, sul sistema cardiovascolare e a livello cerebrale [31–34].

Nel modello animale l'effetto positivo è dose-dipendente ed è un effetto protettivo sulle strutture ossee favorendone la mineralizzazione e riducendo il rischio di sviluppare osteoporosi [31]. Somministrando diversi dosaggi di E4 in donne in post-menopausa si è visto che il suo utilizzo già a partire da bassi dosaggi giornalieri di 2 mg è in grado di migliorare in maniera significativa il quadro di atrofia vulvovaginale caratteristico del periodo

post-menopausale, permettendo di trattare secchezza vaginale e dispareunia causate da deficit estrogenici. [35]

L'E4 sembra inoltre avere risultati migliori rispetto ad altri trattamenti, non estrogenici, attualmente disponibili come l'ospemifene, il deidroepiandrosterone (DHEA) e il tibolone; questi infatti, al contrario dell'E4, nonstante riescano a migliorare le condizioni cliniche legate alla para-fisiologica atrofia vulvovaginale non riescono a portare i tessuti in questione ad una condizione simile a quella pre-menopausale [36–38].

Tra i sintomi più fastidiosi in menopausa troviamo quelli vasomotori che di solito compaiono a cavallo tra la perimenopausa e la menopausa e rappresentano il motivo principale che spinge le pazienti a richiedere una terapia farmacologica [39]. Gaspard et al. [40] studiando un gruppo di 257 donne in menopausa trattate con dosi crescenti di E4 ha verificato che la somministrazione di 15 mg di E4 è in grado di migliorare in maniera netta l'intensità dei sintomi vasomotori. Nello stesso studio si è riscontrato un buon controllo dello spessore endometriale stabilizzato proprio dall'abbinamento col progestinico. Queste osservazioni suggerirebbero un possibile utilizzo in perimenopausa di terapie combinate a base di E4.

Al contrario dell'etinilestradiolo (EE) e dell'estradiolo valerato (E2V), l'E4 ha un impatto molto limitato sulle proteine di sintesi epatica, i fattori della coagulazione, le globuline leganti gli ormoni sessuali (SHBG), l'angiotensinogeno e sui livelli di trigliceridi [26,40,41]. L'E4 potrebbe quindi essere un valido alleato in quanto permette di garantire gli effetti positivi di tipo estrogenico sul sistema cardiovascolare con un ridotto rischio tromboembolico nelle pazienti in menopausa.

Un altro elemento a favore dell'utilizzo dell'E4 è l'effetto di quest'ultimo sul tessuto mammario in quanto da diversi studi è emerso che questo presenta un'azione debolmente estrogenica sulla mammella ed è in grado di agire, in presenza di E2, come un antagonista sul tessuto mammario. È infatti stato valutato che E4 è in grado di agire, in presenza di carcinoma mammario in fase precoce positivo ai recettori estrogenici, sul tessuto tumorale con un effetto pro-apoptotico lasciando invariata l'espressione di Ki67, che rappresenta un indice di proliferazione [42].

CONCLUSIONI

Malgrado il largo utilizzo, i contraccettivi combinati orali hanno un alto tasso di abbandono e inoltre si caratterizzano perché possono favorire eventi tromboembolici anche con basse dosi di EE indipendentemente dal progestinico. La ricerca di alternative più sicure rispetto l'EE ha portato all'introduzione nell'uso contraccettivo dell'estetrolo.

L'E4 grazie alle sue proprietà farmacologiche sembra essere utile sia per la contraccezione che per lo sviluppo di terapie ormonali sostitutive. Ad oggi la combinazione E4 15mg/DRSP 3 mg risulta avere un buon effetto contraccettivo controllando bene i cicli e mantenendosi al contempo neutrale sul versante metabolico, con un buon effetto di questa combinazione ormonale sulle ossa e sul tessuto mammario.

Sono certamente necessari altri studi per consolidare i dati attualmente disponibili e per esplorare il profilo di sicurezza e i rischi nel lungo termine su mammella e tessuto cardiovascolare rispetto alle combinazioni più note a base di EE ed E2. Sicuramente, per le sue caratteristiche, l'E4 ha un profilo che lo rende un plausibile e valente estrogeno da usare per le pazienti in menopausa.

{BIBLIOGRAFIA}

1. Mawet M, Gaspard U, Foidart J-M. Estetrol as estrogen in a combined oral contraceptive, from the first in-human study to the contraceptive efficacy. *European Gynecology and Obstetrics*. 2021;13–21.
2. Gialeraki A, Valsami S, Pittaras T, Panayiotakopoulos G, Politou M. Oral Contraceptives and HRT Risk of Thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost*. marzo 2018;24(2):217–25.
3. Farris M, Bastianelli C, Rosato E, Brosens I, Benagiano G. Pharmacodynamics of combined estrogen-progestin oral contraceptives: 2. effects on hemostasis. *Expert Rev Clin Pharmacol*. ottobre 2017;10(10):1129–44.
4. Holinka CF, Diczfalusy E, Coelingh Bennink HJT. Estetrol: a unique steroid in human pregnancy. *J Steroid Biochem Mol Biol*. maggio 2008;110(1–2):138–43.
5. Coelingh Bennink HJT, Holinka CF, Diczfalusy E. Estetrol review: profile and potential clinical applications. *Climacteric*. 2008;11 Suppl 1:47–58.
6. Gemzell-Danielsson K, Apter D, Zatik J, Weyers S, Piltonen T, Suturina L, et al. Estetrol-Drospirenone combination oral contraceptive: a clinical study of contraceptive efficacy, bleeding pattern and safety in Europe and Russia. *BJOG*. gennaio 2022;129(1):63–71.
7. Creinin MD, Westhoff CL, Bouchard C, Chen MJ, Jensen JT, Kaunitz AM, et al. Estetrol-drospirenone combination oral contraceptive: North American phase 3 efficacy and safety results. *Contraception*. settembre 2021;104(3):222–8.
8. Tskitishvili E, Nisolle M, Munaut C, Pequeux C, Gerard C, Noel A, et al. Estetrol attenuates neonatal hypoxic-ischemic brain injury. *Exp Neurol*. novembre 2014;261:298–307.
9. Coelingh Bennink HJT, Verhoeven C, Zimmerman Y, Visser M, Foidart J-M, Gemzell-Danielsson K. Pharmacokinetics of the fetal estrogen estetrol in a multiple-rising-dose study in postmenopausal women. *Climacteric*. giugno 2017;20(3):285–9.
10. Duijkers I, Klipping C, Kinet V, Jost M, Bastidas A, Foidart J-M. Effects of an oral contraceptive containing estetrol and drospirenone on ovarian function. *Contraception*. giugno 2021;103(6):386–93.
11. Fruzzetti F, Fidecicchi T, Montt Guevara MM, Simoncini T. Estetrol: A New Choice for Contraception. *J Clin Med*. 29 novembre 2021;10(23):5625.
12. Visser M, Coelingh Bennink HJT. Clinical applications for estetrol. *J Steroid Biochem Mol Biol*. marzo 2009;114(1–2):85–9.
13. Pluchino N, Santoro AN, Casarosa E, Giannini A, Genazzani A, Russo M, et al. Effect of estetrol administration on brain and serum allopregnanolone in intact and ovariectomized rats. *J Steroid Biochem Mol Biol*. settembre 2014;143:285–90.
14. Klipping C, Duijkers I, Mawet M, Maillard C, Bastidas A, Jost M, et al. Endocrine and metabolic effects of an oral contraceptive containing estetrol and drospirenone. *Contraception*. aprile 2021;103(4):213–21.
15. Douxfils J, Klipping C, Duijkers I, Kinet V, Mawet M, Maillard C, et al. Evaluation of the effect of a new oral contraceptive containing estetrol and drospirenone on hemostasis parameters. *Contraception*. dicembre 2020;102(6):396–402.
16. Grandi G, Del Savio MC, Lopes da Silva-Filho A, Facchinetti F. Estetrol (E4): the new estrogenic component of combined oral contraceptives. *Expert Rev Clin Pharmacol*. aprile 2020;13(4):327–30.
17. Schmidt M, Lenhard H, Hoenig A, Zimmerman Y, Krijgh J, Jansen M, et al. Tumor suppression, dose-limiting toxicity and wellbeing with the fetal estrogen estetrol in patients with advanced breast cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. giugno 2021;147(6):1833–42.
18. Gallez A, Blacher S, Maquoi E, Konradowski E, Joiret M, Primac I, et al. Estetrol Combined to Progestogen for Menopause or Contraception Indication Is Neutral on Breast Cancer. *Cancers (Basel)*. 20 maggio 2021;13(10):2486.
19. Duijkers IJM, Klipping C, Zimmerman Y, Appels N, Jost M, Maillard C, et al. Inhibition of ovulation by administration of estetrol in combination with drospirenone or levonorgestrel: Results of a phase II dose-finding pilot study. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2015;20(6):476–89.
20. Apter D, Zimmerman Y, Beekman L, Mawet M, Maillard C, Foidart J-M, et al. Bleeding pattern and cycle control with estetrol-containing combined oral contraceptives: results from a phase II, randomised, dose-finding study (FIESTA). *Contraception*. ottobre 2016;94(4):366–73.
21. Apter D, Zimmerman Y, Beekman L, Mawet M, Maillard C, Foidart J-M, et al. Estetrol combined with drospirenone: an oral contraceptive with high acceptability, user satisfaction, well-being and favourable body weight control. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. agosto 2017;22(4):260–7.
22. Estetra. A Multicenter, Open-label, Single-Arm Study to Evaluate the Contraceptive Efficacy and Safety of a Combined Oral Contraceptive Containing 15 mg Estetrol and 3 mg Drospirenone [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2020 gen [citato 10 febbraio 2022]. Report No.: NCT02817841. Disponibile su: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02817841>
23. Estetra. A Multicenter, Open-label, Single-Arm Study to Evaluate the Contraceptive Efficacy and Safety of a Combined Oral Contraceptive Containing 15 mg Estetrol and 3 mg Drospirenone [Internet]. *clinicaltrials.gov*; 2019 set [citato 10 febbraio 2022]. Report No.: results/NCT02817828. Disponibile su: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT02817828>
24. Gerlinger C, Trussell J, Mellinger U, Merz M, Marr J, Bannemerschult R, et al. Different Pearl Indices in studies of hormonal contraceptives in the United States: impact of study population. *Contraception*. agosto 2014;90(2):142–6.
25. Lindh I, Ellström AA, Milsom I. The long-term influence of combined oral contraceptives on body weight. *Hum Reprod*. luglio 2011;26(7):1917–24.

26. Klufft C, Zimmerman Y, Mawet M, Klipping C, Duijkers IJM, Neuteboom J, et al. Reduced hemostatic effects with drospirenone-based oral contraceptives containing estetrol vs. ethinyl estradiol. *Contraception*. febbraio 2017;95(2):140-7.
27. Santoro N. Symptoms of menopause: hot flashes. *Clin Obstet Gynecol*. settembre 2008;51(3):539-48.
28. Abot A, Fontaine C, Buscato M, Solinhac R, Flouriot G, Fabre A, et al. The uterine and vascular actions of estetrol delineate a distinctive profile of estrogen receptor α modulation, uncoupling nuclear and membrane activation. *EMBO Mol Med*. ottobre 2014;6(10):1328-46.
29. Arnal J-F, Lenfant F, Metivier R, Flouriot G, Henrion D, Adlanmerini M, et al. Membrane and Nuclear Estrogen Receptor Alpha Actions: From Tissue Specificity to Medical Implications. *Physiol Rev*. 1 luglio 2017;97(3):1045-87.
30. Guivarc'h E, Buscato M, Guihot A-L, Favre J, Vessières E, Grimaud L, et al. Predominant Role of Nuclear Versus Membrane Estrogen Receptor α in Arterial Protection: Implications for Estrogen Receptor α Modulation in Cardiovascular Prevention/Safety. *J Am Heart Assoc*. 29 giugno 2018;7(13):e008950.
31. Coelingh Bennink HJT, Heegaard A-M, Visser M, Holinka CF, Christiansen C. Oral bioavailability and bone-sparing effects of estetrol in an osteoporosis model. *Climacteric*. 2008;11 Suppl 1:2-14.
32. Heegaard A-M, Holinka CF, Kenemans P, Coelingh Bennink HJT. Estrogenic uterovaginal effects of oral estetrol in the modified Allen-Doisy test. *Climacteric*. 2008;11 Suppl 1:22-8.
33. Holinka CF, Brincat M, Coelingh Bennink HJT. Preventive effect of oral estetrol in a menopausal hot flush model. *Climacteric*. 2008;11 Suppl 1:15-21.
34. Montt-Guevara MM, Palla G, Spina S, Bernacchi G, Cecchi E, Campelo AE, et al. Regulatory effects of estetrol on the endothelial plasminogen pathway and endothelial cell migration. *Maturitas*. maggio 2017;99:1-9.
35. Coelingh Bennink HJT, Verhoeven C, Zimmerman Y, Visser M, Foidart J-M, Gemzell-Danielsson K. Clinical effects of the fetal estrogen estetrol in a multiple-rising-dose study in postmenopausal women. *Maturitas*. settembre 2016;91:93-100.
36. Portman DJ, Bachmann GA, Simon JA, Ospemifene Study Group. Ospemifene, a novel selective estrogen receptor modulator for treating dyspareunia associated with postmenopausal vulvar and vaginal atrophy. *Menopause*. giugno 2013;20(6):623-30.
37. Labrie F, Archer D, Bouchard C, Fortier M, Cusan L, Gomez J-L, et al. Intravaginal dehydroepiandrosterone (Prasterone), a physiological and highly efficient treatment of vaginal atrophy. *Menopause*. ottobre 2009;16(5):907-22.
38. Rymer J, Chapman MG, Fogelman I, Wilson PO. A study of the effect of tibolone on the vagina in postmenopausal women. *Maturitas*. febbraio 1994;18(2):127-33.
39. Monteleone P, Mascagni G, Giannini A, Genazzani AR, Simoncini T. Symptoms of menopause - global prevalence, physiology and implications. *Nat Rev Endocrinol*. aprile 2018;14(4):199-215.
40. Gaspard U, Taziaux M, Mawet M, Jost M, Gordenne V, Coelingh Bennink HJT, et al. A multicenter, randomized study to select the minimum effective dose of estetrol (E4) in postmenopausal women (E4Relief): part 1. Vasomotor symptoms and overall safety. *Menopause*. 5 maggio 2020;27(8):848-57.
41. Mawet M, Maillard C, Klipping C, Zimmerman Y, Foidart J-M, Coelingh Bennink HJT. Unique effects on hepatic function, lipid metabolism, bone and growth endocrine parameters of estetrol in combined oral contraceptives. *Eur J Contracept Reprod Health Care*. 2015;20(6):463-75.
42. Singer CF, Bennink HJT, Natter C, Steurer S, Rudas M, Moïnfar F, et al. Antiestrogenic effects of the fetal estrogen estetrol in women with estrogen-receptor positive early breast cancer. *Carcinogenesis*. novembre 2014;35(11):2447-51.
43. *nation*. *Am J Epidemiol*. 2009;170:766-74.
44. Thurston RC, Ewing LJ, Low CA, Christie AJ, Levine MD. Behavioral weight loss for the management of menopausal hot flashes: a pilot study. *Menopause*. 2015;22:59-65.
45. The NAMS 2017 Hormone Therapy Position Statement Advisory Panel. The 2017 hormone therapy position statement of The North American Menopause Society. *Menopause*. 2017;24:728-53.
46. Archer DF, Schmelzer T, Schaeffers M, Gerlinger C, Gude K, A randomized, double-blind, placebo-controlled study of the lowest effective dose of drospirenone with 17 β -estradiol for moderate to severe vasomotor symptoms in postmenopausal women. *Menopause*. 2014;21:227-35.
47. Bachmann GA, Schaeffers M, Uddin A, Utian WH. Lowest effective transdermal 17 beta-estradiol dose for relief of hot flashes in postmenopausal women: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*. 2007;110:771-9.
48. Armeni E, Lambrinoudaki I, Ceausu I, Depypere H, Mueck A, Pérez-López FR, Schouw YT, Senturk LM, Simoncini T, Stevenson JC, Stute P, Rees M. Maintaining postreproductive health: A care pathway from the European Menopause and Andropause Society (EMAS). *Maturitas*. 2016;89:63-72.
49. Pinkerton JV, Harvey JA, Lindsay R, et al; SMART-5 Investigators. Effects of bazedoxifene/conjugated estrogens on the endometrium and bone: a randomized trial. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99:E189-E198.
50. Cordina-Duverger E, Truong T, Anger A, et al. Risk of breast cancer by type of menopausal hormone therapy: a case-control study among postmenopausal women in France. *PLoS One* 2013;8:e78016.
51. Shumaker S, Legault C, Rapp S, et al; WHIMS Investigators. Estrogen plus progestin and the incidence of dementia and mild cognitive impairment in postmenopausal women: the Women's Health Initiative Memory Study: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;289:2651-62.
52. Singh M, Su C. Progesterone and neuroprotection. *Horm Behav*. 2013 Feb;63:284-90.
53. Bäckström T, Bixo M, Johansson M, Nyberg S, Ossewaarde L, Ragagnin G, Savic I, Strömberg J, Timby E, van Broekhoven F,

- van Wingen G. Allopregnanolone and mood disorders. *Prog Neurobiol.* 2014;113:88-94.
54. Pluchino N, Cubeddu A, Giannini A, Merlini S, Cela V, Angioni S, Genazzani AR. Progestogens and brain: an update. *Maturitas.* 2009;62:349-55.
55. Pluchino N, Lenzi E, Merlini S, Giannini A, Cubeddu A, Casarosa E, Begliuomini S, Luisi M, Cela V, Genazzani AR. Selective effect of chlormadinone acetate on brain allopregnanolone and opioids content. *Contraception.* 2009;80:53-62.
56. Lenzi E, Pluchino N, Begliuomini S, Ninni F, Freschi L, Centofanti M, Casarosa E, Luisi S, Valentino V, Luisi M, Genazzani AR. Effects of norgestrel acetate administration on central and peripheral beta-endorphin and allopregnanolone in ovx rats. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2008;110:67-75.
57. Paoletti AM, Floris S, Mannias M, Orrù M, Crippa D, Orlandi R, Del Zompo M, Melis GB. Evidence that cyproterone acetate improves psychological symptoms and enhances the activity of the dopaminergic system in postmenopause. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86:608-12.
58. Caglayan EK, Kara M, Etiz S, Kumru P, Aka N, Kose G. The effects of progesterone selection on psychological symptoms in hormone replacement therapy. *Adv Clin Exp Med.* 2014;23:63-7.
59. Saletu B, Anderer P, Gruber D, Metka M, Huber J, Saletu-Zyhlarz GM. Hormone replacement therapy and vigilance: double-blind, placebo-controlled EEG-mapping studies with an estrogen-progestogen combination (Climodien, Lafamme) versus estrogen alone in menopausal syndrome patients. *Maturitas.* 2002;43:165-81.
60. Anderer P, Semlitsch HV, Saletu B, Saletu-Zyhlarz G, Gruber D, Metka M, Huber J, Gräser T, Oettel M. Effects of hormone replacement therapy on perceptual and cognitive event-related potentials in menopausal insomnia. *Psychoneuroendocrinology.* 2003;28:419-45.
61. Genazzani AR, Pluchino N, Bernardi F, Centofanti M, Luisi M. Beneficial effect of tibolone on mood, cognition, well-being, and sexuality in menopausal women. *Neuropsychiatr Dis Treat.* 2006;2:299-307.
62. Scarabin PY, Alhenc-Gelas M, Plu-Bureau G, Taisne P, Agher R, Aiach M. Effects of oral and transdermal estrogen/progesterone regimens on blood coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women. A randomized controlled trial. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997;17:3071-8.
63. Ho JY, Chen MJ, Sheu WH, Yi YC, Tsai AC, Guu HF, Ho ES. Differential effects of oral conjugated equine estrogen and transdermal estrogen on atherosclerotic vascular disease risk markers and endothelial function in healthy postmenopausal women. *Hum Reprod.* 2006;21:2715-20.
64. Canonico M, Oger E, Plu-Bureau G, Conard J, Meyer G, Lévesque H, Trillot N, Barrellier MT, Wahl D, Emmerich J, Scarabin PY; Estrogen and Thromboembolism Risk (ESTHER) Study Group. Hormone therapy and venous thromboembolism among postmenopausal women: impact of the route of estrogen administration and progestogens: the ESTHER study. *Circulation.* 2007;115:840-5.
65. Canonico M, Fournier A, Carcaillon L, Olié V, Plu-Bureau G, Oger E, Mesrine S, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Scarabin PY. Postmenopausal hormone therapy and risk of idiopathic venous thromboembolism: results from the E3N cohort study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:340-5.
66. Renoux C, Dell'aniello S, Garbe E, Suissa S. Transdermal and oral hormone replacement therapy and the risk of stroke: a nested case-control study. *BMJ.* 2010;340:c2519.